



Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького
Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies

doi:10.15421/nvlvet8212

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

<http://nvlvet.com.ua/>

УДК 619:616.993.1:636.4

Антиінтерференова й антилактоферинова активність мікроорганізмів дистального відділу кишечника поросят за змішаної нематодозно-протозоозної інвазії

Р.А. Пеленьо
andriyovich30@ukr.net

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

Вивчено зміни антиінтерференової й антилактоферинової активності мікроорганізмів дистального відділу кишечника поросят за змішаної нематодозно-протозоозної інвазії. Встановлено, що інвазія організму асоціацією аскарисів, балантидій та еймерій не впливає на антиінтерференову активність мікроорганізмів роду *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. і *Fusobacterium* spp., проте підвищує її у *Bifidobacterium* spp. на 9,09% і *Clostridium* spp. – на 22,22%, та знижує на 7,69% у *Eubacterium* spp. Порівняно із контролем, антиінтерференова активність мікроорганізмів, виділених із кишечника тварин дослідної групи, була вищою у *Citrobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp. і *Streptococcus* spp. відповідно в 4,6, 4,5, 2,9 та 2,3 рази. У *E. coli* лакт. «-» гем «+» та *E. coli* лакт. «+» гем «-» і *Enterococcus* spp. зростання досліджуваного показника становило від 1,2 до 1,4 рази. У результаті дослідження антилактоферинової активності облигатних анаеробів, виділених із дистального відділу кишечника поросят, інвазованих асоціацією кишкових паразитів, встановлено її зростання в мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* spp. і *Bacteroides* spp. на 33,3%, *Prevotella* spp. – на 29,2%, *Clostridium* spp. – на 64,0%, *Eubacterium* spp. – на 26,7%, *Propionibacterium* spp. – на 84,6% і *Peptostreptococcus* spp. – на 15,4%, порівняно із мікроорганізмами, виділеними із кишечника агельмінтних поросят. Серед МАФАНМ найбільше, порівняно із контролем, антилактоферинова активність зросла у бактерій роду *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. і *Staphylococcus* spp. відповідно в 7,8, 3,7 і 3,5 рази. Менш виражене зростання даного показника встановлено у бактерій роду *Candida* spp. – у 1,5 рази, *E. coli* лакт. «-» гем «+» і *Enterobacter* spp. – у 1,4 рази, *Lactobacillus* spp. і *Enterococcus* spp. – у 1,3 рази, *Streptococcus* spp. – у 1,2 рази.

Ключові слова: облигатні анаероби, умовно-патогенна мікрофлора, змішана інвазія, антиінтерференова активність, антилактоферинова активність.

Антиинтерференовая и антилактофериновая активность микроорганизмов дистального отдела кишечника поросят при смешанной нематодозно-протозоозной инвазии

Р.А. Пеленьо
andriyovich30@ukr.net

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина

Изучены изменения антиинтерференовой и антилактофериновой активности микроорганизмов дистального отдела кишечника поросят при смешанной нематодозно-протозоозной инвазии. Установлено, что кишечные паразиты не влияют на антиинтерференовую активность *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. и

Citation:

Peleno, R.A. (2017). Antiinterferonic and antilactofearinic activity of microorganisms of distal part of the pigs intestine. *Scientific Messenger LNUVMB*, 19(82), 56–60.

Fusobacterium spp., повышают её в *Bifidobacterium* spp. и *Clostridium* spp. соответственно на 9,09% и 22,22% и снижают на 7,69% в *Eubacterium* spp. По сравнению с контролем, у животных опытной группы антиинтерфероновая активность возросла в *Citrobacter* spp. и *Staphylococcus* spp. в 4,6 и 4,5 раза, *Klebsiella* spp. и *Streptococcus* spp. соответственно в 2,9 и 2,3 раза, а также от 1,2 до 1,4 раза активность возросла в *E. coli* лакт. «-» гем «+», *E. coli* лакт. «+» гем «-» и *Enterococcus* spp. При действии кишечных паразитов возрастает, по сравнению с агельминтными поросятами, АЛФА у *Bifidobacterium* spp. и *Bacteroides* spp. на 33,3%, *Prevotella* spp. – на 29,2%, *Clostridium* spp. – на 64,0%, *Eubacterium* spp. – на 26,7%, *Propionibacterium* spp. – на 84,6% и *Peptostreptococcus* spp. – на 15,4%. Среди МАФАНМ, изолированных от инвазированных животных, антилактоферриновая активность выросла в *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus* spp. соответственно в 7,8, 3,7 и 3,5 раза. У *Candida* spp. исследуемый показатель вырос в 1,5 раза, *E. coli* лакт. «-» гем «+» и *Enterobacter* spp. – в 1,4, *Lactobacillus* spp. и *Enterococcus* spp. – в 1,3 и *Streptococcus* spp. – в 1,2 раза.

Ключевые слова: облигатные анаэробы, условно-патогенная микрофлора, смешанная инвазия, антиинтерфероновая активность, антилактоферриновая активность.

Antiinterferonic and antilactoferrinic activity of microorganisms of distal part of the pigs intestine

R.A. Peleno
andriyovich30@ukr.net

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine

It was investigated the changes of anti interferonic and anti lactoferrinic activity of microorganisms of distal part of the pigs intestine for mixed nonmatodocic – protozoocic invasion. Established that the organism invasion of the ascaris association, balantidium and eymeria does not cause changes of anti interferonic activity in microorganisms of genus *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. and *Fusobacterium* spp., but increases it in *Bifidobacterium* spp. at 9.09% and *Clostridium* spp. at 22.22%, and decreases to 7.69% in *Eubacterium* spp. Compared with controls, interferonic activity of microorganisms selected from animals intestine from the 2nd group was higher in *Citrobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp. and *Streptococcus* spp. accordingly in 4.6, 4.5, 2.9 and 2.3 times. In colilact. «-» gem «-» and *Enterococcus* spp. the growth of investigated rate was 1.2 to 1.4 times. Thanks to the result of investigation of anti interferonic activity of obligate anaerobes selected from the distal intestine of pigs infested by the association of intestinal parasites, was set its growth in microorganisms of genus *Bifidobacterium* spp. and *Bacteroides* spp. to 33.3%, *Prevotella* spp. – to 29.2%, *Clostridium* spp. – to 64.0%, *Eubacterium* spp. – to 26.7%, *Propionibacterium* spp. – to 84.6% and *Peptostreptococcus* spp. – to 15.4%, compared with microorganisms selected from the intestines of agility pigs. Among МАФАНМ the most compared, to control, anti lactoferrinic activity was grown in bacteria of genus *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. and *Staphylococcus* spp. accordingly in 7.8, 3.7 and 3.5 times. Less expressed growth of the indicator was found in bacteria of genus *Candida* spp. – into 1.5 times, *E. coli* lact. «-» gem «+» and *Enterobacter* spp. – 1.4 times, *Lactobacillus* spp. and *Enterococcus* spp. – 1.3 times and *Streptococcus* spp. – 1.2 times.

Key words: obligate anaerobes, conditionally pathogenic microflora, mixed invasion, anti interferonic activity, anti lactoferrinic activity.

Вступ

Формування симбіотичних відносин популяціями мікроскопічних організмів, які населяють тіло тварин, сприяє утворенню специфічного «мікросимбіоценозу» з відкритою саморегульованою системою мікроорганізмів автохтонних і алохтонних видів, які перебувають у певних взаємозв'язках (Gomes and Malcata, 1999; Buharin, 1999; Buharin et al., 2005; Morozova, 2013). Унікальною моделлю для вивчення міжпопуляційних взаємин є кишечник. Будь-яка зміна структури біоценозу кишечника призводить до наростання персистуючих властивостей умовно-патогенної та патогенної мікрофлори, інактивації імунного захисту організму господаря і формування осередків хронічної інфекції (Fil'chakov and Zarickij, 2005; Ivanova et al., 2009; Romanova et al., 2011; Holubnycha, 2014).

Крім мікроорганізмів, кишечник заселяють кишкові паразити, що є однією з причин порушень гомеостазу, а також сприятливим чинником для виникнення та розвитку синдрому ендогенної інтоксикації (Kozlov et al., 2010).

Досі залишаються нез'ясованими питання впливу кишкових паразитів і продуктів їхньої життєдіяльнос-

ті на основні біологічні властивості представників нормофлори кишечника. Наслідком цього є відсутність глибокого розуміння патогенезу багатьох хвороб, що своєю чергою унеможливорює розробку нових ефективних засобів боротьби з ними.

Саме тому проведення досліджень, спрямованих на вивчення впливу змішаної нематодозно-протозоозної інвазії на біологічні властивості мікроорганізмів кишечника, є актуальним.

Метою роботи було вивчити вплив змішаної протозоозно-нематодозної інвазії на антиінтерферонову й антилактоферринову активність мікроорганізмів, які персистують у дистальному відділі кишечника поросят.

Матеріал і методи досліджень

В експериментах *in vitro* використовували мікроорганізми, виділені з мікробіоценозу дистального відділу кишечника інтактних поросят, – контрольна група та поросят, уражених змішаною нематодозно-протозоозною інвазією (аскариси + еймерії + балантидії), – дослідна група. При формуванні дослідної групи враховували інтенсивність інвазії (II) гельмін-

тами та найпростішими, яку визначали методом McMaster (Vasil'eva, 1995). Так, кількість ооцист балантидій в 1 г калу становила $752,9 \pm 64,7$, еймерій – $639,1 \pm 49,4$, яєць аскарисів $626,3 \pm 26,1$ екземплярів.

Відбір матеріалу для дослідження проводили індивідуально із прямої кишки в стерильні пеніцилінові флакони. Час із моменту забору проб до моменту досліджень не перевищував 2-ох годин.

Для проведення бактеріологічних досліджень наважку калу масою 1 г ретельно розтирали в стерильній ступці з 9 мл стерильного буферного розчину. З основного розведення виготовляли ряд таких розведень, починаючи з 10^2 і до 10^{12} . Висів суспензії в кількості 0,05–0,1–1,0 мл робили на Schaedler-агар, ентєрококагар, жовтково-сольовий агар, кров'яний агар, вісмут-сульфіт агар, середовища Ендо і Плоскірева та агар Сабуро.

Посіви факультативних анаеробів культивували в термостаті за 37 °С протягом 24 годин, облигатні анаероби – протягом 48 годин в анаеробній камері з використанням газогенераторних пакетів «GasPak Anaerobic System» (BBL, США).

Фактори персистентності виділених мікроорганізмів визначали згідно з рекомендаціями О.В. Бухарина (Buharin, 1999).

Одержані результати піддавали статистичній обробці, яку проводили методом варіаційної статистики з визначенням середніх значень величин і середньої похибки. Вірогідність відмінностей між середніми значеннями під час проведення аналізу оцінювали, використовуючи критерій Стюдента (t). Відмінність між величинами вважали вірогідною, коли ймовірність різниці становила $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження асоціативного впливу аскарисів, еймерій та балантидій на АІА і АЛФА ізольованої нами кишкової мікрофлори поросят показано на рис. 1–4.

Із одержаних даних видно, що ураження поросят змішаною нематодозно-протозоозною інвазією по-різному вплинуло на антиінтерферонову активність облигатних анаеробів, виділених з дистального відділу кишечника (рис. 1).

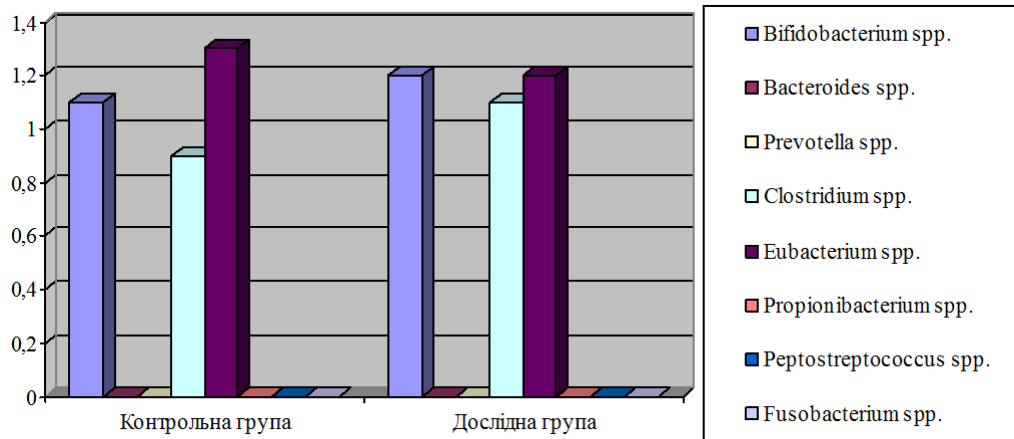


Рис. 1. Антиінтерференова активність облигатних анаеробів, виділених з дистального відділу кишечника поросят, Од.

Аналіз результатів показав, що інвазія поросят аскаридами, еймеріями і балантидіями не вплинула на досліджуваний показник таких родів мікроорганізмів, як *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. і *Fusobacterium* spp. Зростання АІА на 9,09% і 22,22% встановлено у бактерій роду *Bifidobacterium* spp. і *Clostridium* spp., а зниження на 7,69% – у мікроорганізмів *Eubacterium* spp. Такі зміни можуть бути наслідком динамічних процесів у мікробіоценозі, сталість якого безперервно порушується наявністю кишкових паразитів, а також різною напруженістю захисних сил організму.

За дії кишкових паразитів змінювалася також АЛФА облигатних анаеробів, виділених із дистального відділу кишечника поросят (рис. 2). Проте на відміну від АІА, у всіх ізольованих нами мікроорганізмів АЛФА зросла, порівняно із поросятами контрольної групи, у *Bifidobacterium* spp. і *Bacteroides* spp. на 33,3%, *Prevotella* spp. – на 29,2%, *Clostridium* spp. – на 64,0%, *Eubacterium* spp. – на 26,7%, *Propionibacterium*

spp. – на 84,6% і *Peptostreptococcus* spp. – на 15,4%.

Стимулювальний вплив кишкових паразитів та продуктів їхньої життєдіяльності на АЛФА мікроорганізмів дистального відділу кишечника поросят, ймовірно, обумовлений посиленою інактивацією лактоферину, що є регулятором метаболізму заліза в організмі.

Дослідження антиінтерференової активності МА-ФАНМ, виділених із дистального відділу кишечника поросят (рис. 3), показало, що вона була притаманна практично всім мікроорганізмам: як тим, що були ізольовані від здорових, так і виділеним від уражених паразитами тварин, крім *Lactobacillus* spp. і *Candida* spp. Рівень експресії цієї ознаки у мікроорганізмів, виділених від здорових тварин, перебував у межах від 0,2 до 3,7 ОД, а в уражених асоціацією аскариди-еймерії-балантидії – від 0,9 до 4,3 ОД.

Порівняно із контрольною групою, у тварин дослідної групи АІА зросла найбільше у *Citrobacter* spp. і *Staphylococcus* spp. – відповідно в 4,6 і 4,5 рази, дещо

менше – у *Klebsiella* spp. і *Streptococcus* spp., відповідно у 2,9 і 2,3 раза та від 1,2 до 1,4 раза активність зросла у *E. coli* лакт. «-» гем «+», *E. coli* лакт. «+» гем «-» і *Enterococcus* spp. Одержані нами результати засвідчують, що такий фактор персистенції мікроорганізмів, як AIA, тісно зв'язаний з інвазією організму

кишковими паразитами і, певною мірою, може впливати на її перебіг.

Результати дослідження антилактоферинової активності МАФАНМ, виділених із дистального відділу кишечника поросят, показано на рис. 4.

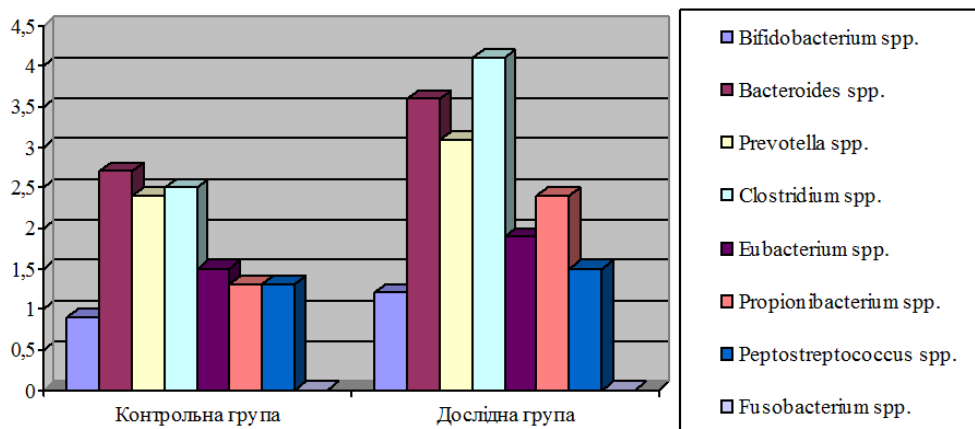


Рис. 2. Антилактоферинова активність облигатних анаеробів, виділених із дистального відділу кишечника поросят, нг/мл

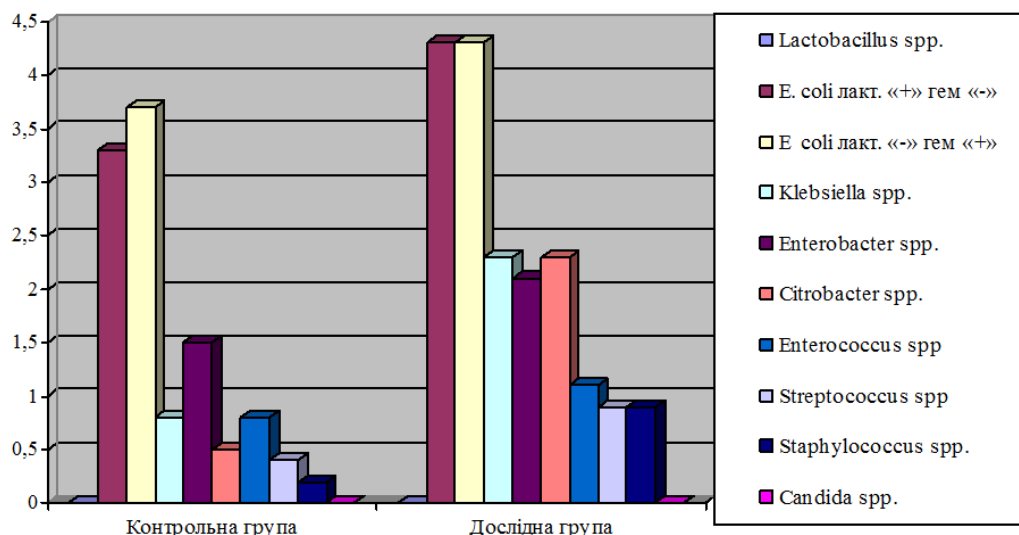


Рис. 3. Антиінтерферонова активність МАФАНМ, виділених із дистального відділу кишечника поросят, Од.

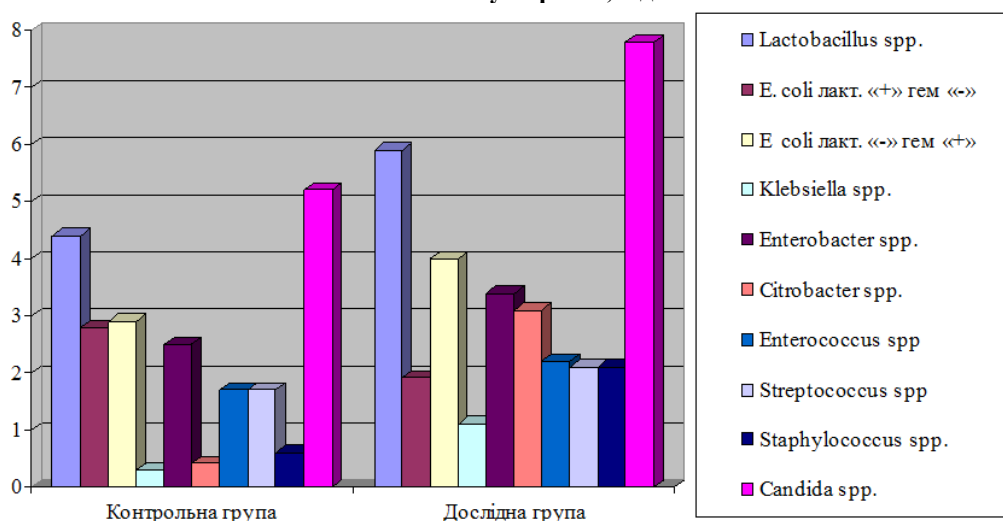


Рис. 4. Антилактоферинова активність МАФАНМ, виділених із дистального відділу кишечника поросят, нг/мл

Встановлено, що АЛФА була властива всім МА-ФАНМ, ізолюваним як від інтактних, так і від уражених кишковими паразитами поросят. При цьому рівень експресії АЛФА мікроорганізмів, виділених від поросят контрольної групи, становив від 0,3 до 5,2 нг/мл, а дослідної – від 1,1 до 7,8 нг/мл. Наростання персистенції МАФАНМ встановлено у всіх ізолюваних нами мікроорганізмів, крім *E. coli* лакт. «+» гем «-», у яких активність виявилася нижчою, порівняно із активністю мікроорганізму, виділеного від інтактних поросят, на 32,1%. Найбільше антилактоферинова активність зросла у *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. і *Staphylococcus* spp. – відповідно у 7,8, 3,7 і 3,5 раз, тимчасом як у *Candida* spp. вона зросла в 1,5 раз, *E. coli* лакт. «-» гем «+» і *Enterobacter* spp. – у 1,4 раз, *Lactobacillus* spp. і *Enterococcus* spp. – у 1,3 раз, *Streptococcus* spp. – у 1,2 раз.

Висновки

1. Ураження поросят змішаною нематодозно-протозоозною інвазією за інтенсивності інвазії балантидіями $752,9 \pm 64,7$ ооцист, еймерій – $639,1 \pm 49,4$ ооцист, аскарисів $626,3 \pm 26,1$ яєць в 1 г калу не впливає на антиінтерферонову активність *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. і *Fusobacterium* spp., підвищує її у *Bifidobacterium* spp. і *Clostridium* spp. відповідно на 9,09% і 22,22%, у *Citrobacter* spp. і *Staphylococcus* spp. – у 4,6 і 4,5 раз, *Klebsiella* spp. і *Streptococcus* spp. – у 2,9 і 2,3 раз, в *E. coli* лакт. «-» гем «+», *E. coli* лакт. «+» гем «-» і *Enterococcus* spp від 1,2 до 1,4 раз та знижує на 7,69% у *Eubacterium* spp., порівняно із контролем.

2. За дії кишкових паразитів встановлено зростання антилактоферинової активності як в облигатних анаеробів, так і серед МАФАНМ. Зокрема у *Bifidobacterium* spp. і *Bacteroides* spp. зростання цього показника становило 33,3%, *Prevotella* spp. – 29,2%, *Clostridium* spp. – 64,0%, *Eubacterium* spp. – 26,7%, *Propionibacterium* spp. – 84,6% і *Peptostreptococcus* spp. – 15,4%. У *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. і *Staphylococcus* spp. антилактоферинова активність зросла відповідно у 7,8, 3,7 і 3,5 раз, у *Candida* spp. – в 1,5 раз, *E. coli* лакт. «-» гем «+» і *Enterobacter* spp. – в 1,4 раз, *Lactobacillus* spp. і *Enterococcus* spp. – в

1,3 раз, *Streptococcus* spp. – в 1,2 раз, порівняно із контролем.

Бібліографічні посилання

- Buharin, O.V. (1999). Persistencija patogennyh bakterij. M.: Medicina, 1999. – 366 s. (in Russian).
- Vasil'eva, Z.G. (1995). Metody gel'mintologicheskikh issledovanij. M.: Medgiz (in Russian).
- Ivanova, E.V., Perunova, N.B., Valyshev, A.V. (2009). Vidovaja harakteristika i faktory persistencii bifidoflory kishechnika v norme i pri disbiozah. Zhurnal mikrobiologii. 2, 89–93 (in Russian).
- Holubnych, V.M. (2014). Biologichni vlastyivosti umovno patohennykh mikroorhanizmiv vydilennykh vid khvorykh na HRVI. Vseukrainska naukovopraktychna konferentsiia «Infektsiini khvoroby v praktytsi likaria-internista: suchasni aspekty», SumDU, 27–29 (in Ukrainian).
- Kozlov, S.S., Ahmedova, M. D., Zahidova, N.A. (2010). Sindrom jendogennoj intoksikacii u detej, bol'nyh smeshannymi kishechnymi parazitozami. Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni. 1, 17–19 (in Russian).
- Buharin, O.V., Gincburg, A.L., Romanova, Ju.M., Jel'Registan, G.I. (2005). Mehanizmy vyzhivaniya bakterij. M.: Medicina (in Russian).
- Morozova, O.V. (2013). Mikrobnyi faktor u problemi khronizatsii ta persystenizatsii infektsiinoho protsesu. Infektsiini khvoroby. 4, 93–96 (in Ukrainian).
- Romanova, Ju.M., Didenko, L.V., Tolordava, Je.R., Gincburg, A.L. (2011). Bioplenki patogennyh bakterij i ih rol' v hronizacii infekcionnogo processa. Poisk sredstv bor'by s bioplenkami. Vestn. RAMN. 10, 31–39 (in Russian).
- Fil'chakov, I.V., Zarickij, A.M. (2005). Persistencija bakterij i formirovanie dominantnyh populacij vzbuditelja. Suchasni infekcii. 2, 20–27 (in Russian).
- Gomes, A.M.P., Malcata, F.X. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Science & Technology. 10, 139–157.
- Guarner, F., Malagelada, J.-R. (2003). Gut flora in health and disease. tl LanceL. 360, 512–519.

Received 19.09.2017

Received in revised form 29.10.2017

Accepted 31.10.2017